

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BAKTERIENFLORA
DER GEWÜRZE UNTER BESODDERER BERÜCKSIC-
TINUNG DER AEROBEN SPORENBILDNER.**

Turan Inal*

Die aeroben Bazillen, die die Eigenschaft besitzen Eiweissstoffe zu zersetzen, zaehlen zu den aeroben Faeculis-Erregern. Da sie zum Teil unter anaeroben Verhaeltnissen wachsen können, gelten sie auch als fakultativ Anaerobier. Durch ihre proteolytischen Fermente sind sie im Stande Eiweiss abzubauen, wodurch als Endstufe Aminosaeuren entstehen. Nach Janson¹¹ werden die Aminosaeuren durch aerobe Bazillen zu Amininen und Co₂ abgebaut (Dekarboxylierung). Beim weiteren Abbau entstehen Giftstoffe wie Cadaverin und Putrescin. Die Aminosaeuren können auch durch Desaminierung abgebaut werden, wobei als Endprodukt Ammoniak gebildet wird. Eine dritte Form ist die Kombination Dekarboxylierung + Desaminierung.

Nach Horowitz-Wlassowa⁹ zeigt sich *Bac. mesentericus* als der Aktivste unter den aeroben Sporenbildnern, da er natürliches Eiweiss zersetzt, Kasein peptonisiert und Gelatine verflüssigt.

Nach Bergey's Manual² kommen die meisten aeroben Bazillen im Erdboden vor. Mit wenigen Ausnahmen sind sie Saprophyten.

Nach Smith und Mitarbeiter¹⁸ sind die beiden pathogenen Arten, *Bac. anthracis* und *Bac. thuringiensis* als getrennte Spezies aufzuführen. Die Sporen dieser pathogenen aeroben Bazillen sind zylindrisch und haben eine zentrale oder terminale Lage. Die Sporen von *Bac. alvei* und *Bac. larvae*, die die Faulbrut der Bienen verursachen, sind dagegen deutlich zylindrisch und geschwollen.

Nach Schönberg¹⁵ verursachen die aeroben Sporenbildner insbesondere Bazillen der *Mesentericus-Subtilis-Gruppe*, Fehlfabrikate

* Reserve-Veterinaerleutnant im Laboratorium für Nahrungsmittelkontrolle und Technologie der Militaer-Veterinaerakademie in Ankara

in der Fleischwarenindustrie. Über 70 % der bakteriellen Zersetzung an Rohwurst wird überwiegend von diesen Keimen hervorgerufen.

Die Zutaten, die bei der Herstellung der Fleischwaren Verwendung finden, bilden eine bedeutende Infektionsquelle für die Fleischprodukte aller Art.

Der Keimgehalt der Gewürze spielt in dieser Hinsicht keine geringfügige Rolle. Da den Fleischwaren zur Verbesserung des Geschmacks mehr oder weniger Gewürze zugesetzt werden, besteht die Möglichkeit, die Ware mit aeroben Sporenbildnern zu infizieren.

Der Keimgehalt der Gewürze haengt mehr von der Art der Ernte und der Bearbeitungsweise ab. Die aeroben Bazillen sind im Erdboden sehr verbreitet und können daher leicht bei der Bearbeitung in die Ernte gelangen. Die weitere Behandlung, besonders die Lagerung der Gewürze kann auch für den Keimgehalt von grosser Bedeutung sein. Werden die Gewürze im feuchten Lagerraum gelagert, vermehren die aeroben Bazillen bei günstiger Temperatur. Aus diesem Grunde schlagen Schönberg und Wundram¹⁴ vor, die Gewürze ausserhalb der Räume aufzubewahren, wo Fleischwaren hergestellt werden. Da der entstehende Dunst sowie die günstige Temperatur zur Vermehrung der Keime führen, müssen die Gewürze in trockenen und kühlen Räumen aufbewahrt werden.

Nach Hüttmann¹⁰ haften den Gewürzen Muskatblüte, Muskatnuss und Nelken weniger Keime an, was selbstverstaendlich mit der Art der Ernte zusammen haengt. Die in Gewürzen in verschiedenen Mengen vorhandenen aetherischen Öle beeinflussen den Keimgehalt der Gewürze. Die aetherischen Öle, die den Genusswert der Gewürze bestimmen, wirken konservierend und keimhemmend. Ist der Gehalt der aetherischen Öle eines Gewürzes niedrig, vermehren sich die Keime unter günstigen Umstaenden sehr leicht. Nach Hille⁸ sind die aetherischen Öle schwach keimhemmend.

Berkmen¹, Dold und Knapp⁵ untersuchten die Gewürze nach ihrer antibakteriellen Wirkung und fanden, dass Knoblauch die staerkste keimhemmende Wirkung auf die Testbakterien besass.

Hille⁸, der verschiedene Gewürze auf ihren Keimgehalt untersuchte, kam zu dem Ergebnis, dass Nelken mit einem sehr hohen Gehalt an aetherischen Ölen keinen Einfluss auf *Bac. subtilis* hatten. Bei den Versuchen mit Knoblauch war es auch nicht anders. Die auf Grund der aetherischen Öle eine geringe bakterizide Wirkung besitzen, sind selbst nicht keimfrei.

Hüttmann¹⁰ fand bei seinen Untersuchungen über den Keimgehalt der in Deutschland gebräuchlichen Gewürze, *Bac. megaterium*, *Bac. cereus*, *Bac. pumilus* und *Bac. subtilis*. Ferner ist es ihm gelungen, herauszuzüchten.

Hille⁸ isolierte aus Majoran, Pfeffer und Nelken, *Bac. subtilis* und *Bac. Pumilus*.

Nach Ostertag und Schönberg¹³ bewirken die Bazillen der *Subtilis-Mesentericus*-Gruppe, die häufig mit den Gewürzen, insbesondere mit Pfeffer, in grossen Mengen in das Wurstgut gelangen, die Zersetzung und Beissigkeit der Würste.

Walz¹⁹ und Schönberg¹⁶ berichten von der Verkeimung der in der Fleischwirtschaft verwendeten Gewürze. Nach Ansicht der beiden Autoren reichert sich das Wurstgut, das mit diesen Gewürzen zubereitet wird, mit den aeroben Bazillen.

Coretti³ hat schwarzen Pfeffer auf den Keimgehalt untersucht und in 1 g des betreffenden Gewürzes 36.089.490 Keime ermittelt. Die von ihm untersuchten 13 Gewürzarten waren mit den Keimen der *Subtilis-Mesentericus*-Gruppe infiziert, welche die Fähigkeit besaßen, Eiweiss abzubauen.

Durch Zusatz solcher mit *Subtilis-Mesentericus*bazillen stark befallener Gewürze wird die Haltbarkeit der Fleischwaren gefährdet.

Da man schon früher erkannt hat, dass die Gewürze, die als Zutaten unentbehrlich sind, bei der Herstellung der Fleischwaren eine wichtige Rolle spielen, hat man Versuche angestellt, Extrakte aus den Gewürzen herzustellen, die keimarm sogar keimfrei sind. Man hat die Extraktstoffe aus den Gewürzen gewonnen und dem Traubenzucker aufgetragen, welcher sich als keimfreier Gewürzträger am besten bewährt hat.

Lerche¹³ und Grau⁶ berichten von der Zubereitung dieser Trägerflüssigkeiten. Da aber die Inhaltsstoffe auf eine sterile Flüssigkeit nicht ganz aufgetragen werden können, versuchte man durch verschiedene Methoden sterile Gewürze zu erhalten.

Nach Wundram-Schönberg¹⁴ müssen die Gewürze peinlich sauber und von der Umgebung abgeschlossen, am besten in dichtschliessenden, vor jeder Neufüllung mit strömendem Wasserdampf sterilisierten Behältern aufbewahrt werden. Die Gewürzmöhlen täglich nach Arbeitsschluss zu reinigen und wie zuvor einer Desinfektion zu unterziehen.

Schönberg¹⁷ schlägt zur Keimminderung der Gewürze die Benützung von U-V-Entkeimungslampen vor. Das Gewürz soll in einer dünnen Schicht und einer Breite von 1-2 m auf einem Fließband ausgebreitet sein. Die U-V-Lampen werden im Abstand von 50 cm angebracht. Nach seinen Versuchen waren aber trotz einer 4 stündigen Bestrahlung des mit Thymian versetzten Agars immer noch Kolonien des *Bac. mesentericus* festzustellen. Trotz mehrstündiger Bestrahlung durch UV-Entkeimungslampen ist eine völlige Keimfreimachung der Gewürze nicht göglich.

Schönberg¹⁵ wies nach, dass bei UV-Bestrahlung die aetherischen Öle und Wirkstoffe in Gewürzen erhalten bleiben, weil dabei keine Waerme erzeugt wird.

Nach Coretti⁴ kann eine zuverlaessige Keimminderung durch UV-Bestrahlung nicht erreicht werden. Der Keimgehalt der Gewürze laesst sich am geeignetesten durch trockene Hitze vermindern.

Hadlock⁷ hat mit der trockenen Hitze Versuche zum Sterilisieren der Gewürze angestellt. Eine sichere Abtötung war bei einer Temperatur von 106° C in 105 Minuten möglich. Diese Zeit verkürzte sich auf 55 Minuten, als die Temperatur auf 115°C eingestellt wurde.

Da die UV-Strahlen nicht alle Keime in Gewürzen zu töten vermochten, führte Schönberg¹⁶ Versuche zur Abtötung der Sporen der aeroben Bazillen, insbesondere der *Mesentericus-Subtilis*-Gruppe durch trockene Hitze durch. Bei dieser Entkeimungsmethode bleiben die aetherischen Öle und Wirkstoffe in Gewürzen erhalten, waehrend sie beim Abtöten in Dampfsterilisatoren zum grössten Teil verloren gehen.

Material und Methodik

Es wurden drei Proben "schwarzer Pfeffer" und je zwei Proben "roter Paprika", Kümmel und Zimt auf ihre Bakterienflora untersucht. Saemtliche Gewürzsorten, die in gemahlenem Zustand waren stammen aus dem Ankaraer Handel.

Unter sterilen Kautelen wurde von jeder Gewürzprobe 0.05 g entnommen und auf je eine Naehragar-Platte gleichmaessig verstreut. Die so beimpften Agar-Platten wurden 72 Stunden bei Zimmertemperatur (ca. 22°C) aufgehhalten. Von den aufgegangenen Kolobien wurden anschliessend Ausstriche gemacht und nach Gram gefaerbt. Von den eventuellen Kolonien der aeroben Bazillen wurden Reinkulturen angelegt. Die Anlegung dieser Reinkulturen wurde ebenfalls

auf Naehragar vorgenommen. Danach erfolgte die Prüfung auf Haemolyse durch Beimpfen vom Traubenzucker-Blutagar-Naehrboden. Zur Kontrolle der Hydrolyse wurde Milchagar herangezogen. Beide Naehrböden wurden bei 37°C, 24 Stunden bebrütet.

Um die Eigenschaften der aeroben Sporenbildner weiterhin prüfen zu können, wurde von Kolonien der Reinkulturen je ein Böuillon-Röhrchen beimpft und 24 Stunden bei 37°C im Brutschrank aufgehalten. Anschliessend wurde die Beweglichkeitsprüfung im haengenden Tropfen ausgeführt.

Nachdem die Eigenschaften der aeroben Bazillen in den oben erwahnten Naehrmedien festgestellt worden waren, wurden zur Differenzierung der isolierten Staemme die Vergaerungsreihe (Glykose, Laktose, Arabinose und Ksylose) sowie die Voges-Proskauer-Reaktion und Indolprüfung herangezogen. Das Wachstum auf citratagar wurde ebenfalls bewertet.

U n t e r s u c h u n g s e r g e b n i s s e

Nach einer Aufhaltezeit von 72 Stunden bei Zimmertemperatur (22°C) wuchsen auf den Agar-Platten grampositive Mikrokokken, Staphylokokken (Staphl. albus und aureus), Streptokokken, aerobe Bazillen sowie Pilze.

Es wurden von den Gewürzproben Nr. 1 und 4 je zwei Staemme der aeroben Sporenbildher gezüchtet. Aus den Proben 2,3,5,7,8 gelang je ein Stamm zum Nachweiss. Dagegen wurden bei der Probe Nr. 6 und 9 keine aerobe Bazillen nachgewiesen. Tabelle 1 gibt Aufschluss über die Bakterienflora der untersuchten Gewürze.

Im mikroskopischen Bild wurden grampositive, plumpe, an den Enden abgerundete, feine Staebchen, die meistens Kettenform aufwiesen, beobachtet. Die Beweglichkeitsprüfung im haengenden Tropfen fiel meist positiv aus.

Weitere Eigenschaften der isolierten Kolonien wurden auf Traubenzucker-Blutagar und Milchagar geprüft. Das Verhalten der aeroben Sporenbildner auf diesen Naehrmedien ist aus der Tabelle II zu ersehen.

Die Differenzierung der isolierten Staemme erfolgte durch die Vergaerungsreihe, die Voges-Proskauer-Reaktion, die Indolprüfung sowie das Wachstum auf Citratagar.

Zur Indolprüfung blieben die beimpften Bouillon-Röhrchen bei 37°C, 48 Stunden im Brutschrank. Danach wurde den Röhrchen je 1 ccm Indolreagenz zugesetzt. Ein roter oder schwachroter Farbumschlag wurde als positiv angenommen.

Die beimpften Citratagar-Nachböden mit Phenolrot Zusatz wurden 72 Stunden beim 37°C im Brutschrank gehalten. Die roten Kolonien galten als positiv.

Die zur Vergaerungsprüfung herangezogenen Zucker (Glykose, Saccharose, Laktose, Arabinose und Ksylose) wurden nach Beimpfung 48 Std. bei 37°C bebrütet. Danach wurde der Farbumschlag und die Gasbildung bewertet. Die Differenzierung der Staemme ist in der Tabelle III dargestellt worden.

Wie es aus der Tabelle I zu ersehen ist, ist die Bakterienflora der Gewürze "Kümmel und Zimt" im Verhaeltnis zu Pfeffer und Paprika schwacher. Da aus den Proben dieser beiden Gewürze (Kümmel und Zimt) nur noch je ein Stamm der aeroben Sporenbildner gezüchtet worden ist, ist es anzunehmen, dass der hohe Gehalt an aetherischen Ölen in diesen Gewürzen keimhemmend auswirkt.

TABELLE I

Gewürzproben	Kulturelles Verhalten Auf Naehragar (72 Std.bei 22oC)						Prüfung auf Anaerobien (Traubenzucker-Hochschiehtagar)
	Mikrokokken	Staphylokokken	Streptokokken	Pilze	Grampositive	Bazillen	
1)- Schwarzer Pfeffer (gemahlen)	+++	aureus albus	+ +++	++	—	+++	positiv
2)- " " "	++++	aureus albus	++ ++	+	++	+++	positiv
3)- " " "	++++	aureus albus citreus	++ +++ +	++	+	+++	positiv
4)- Roter Paprike "	+++	aureus albus	+ +++	++	++	++	positiv
5)- " "	+++	albus	+++	+	—	+	positiv
6)- Kümmel "	++	albus	++	—	+	+	positiv
7)- " "	++	albus	+++	—	—	+	—
8)- Zimt "	++	—	—	—	+	+	positiv
9)- " "	++	albus aureus	+ +	+	—	—	—

+ = 1 Kolonie ++ = 1-10 Kolonien +++ = 10-20 Kolonien ++++ = sehr viele Kolonien.

Tabelle - II

Kulturelles Verhalten bei auf dem Agarnaehrboden isolierten grampositiven Bazillen

Staemme	Bouillon	Traubenzucker-Blutagar	Milchagar	Bewelichkeitsprüfung	Ergennis
1 a	Trübung + Niederschlag	β Haemolyse	starke Hydrolyse	positiv	+
1 b	Trübung	β Haemolyse	schwache Hydrolyse	positiv	+
2	keine Trübung Wachsaehtl. Haeutchen	β Haemolyse	starke Hydrolyse	positiv	+
3	keine Trübung Wachsaehtl. Haeutchen	β Haemolyse	starke Hydrolyse	positiv	+
4 a	Trübung Haetchenbildung	β Haemolyse	starke Hydrolyse	positiv	+
4 b	leichte Trübung	α Haemolyse	schwache Hydrolyse	positiv	+
5	Trübung	β Haemolyse	starke Hydrolyse	positiv	+
6	starke Trübung	α Haemolyse	keine Hydrolyse	negativ	+
7	Trübung + Rindbildung	β Haemolyse	schwache Hydrolyse	positiv	+
8	starke Trübung	α Haemolyse	starke Hydrolyse	positiv	+

TABELLE III

Differenzierung der isolierten Staemme der aeroben Bazillen

Staemme	Nitrat- Reduktion	Voges-Proskauer Feaktion	Indol- prüfung	Glykose	Saccharose	Laktose	Arabinose	Ksylose	Citratagar	Ergebnis
1 a	—	—	—	+	+	—	+	+	+	Bac.megaterium
1 b	+	+	—	+(Gas)	+(Gas)	+(Gls)	+(Gas)	+(Gas)	—	Bac.polymyxa
2	+	+	—	+	+	—	+	+	+	Bac.subtilis
1	+	+	—	+	+	—	+	+	+	Bac.subtilis
4 a	—	+	—	+	+	—	+	+	+	Bac.pimilus
4 b	+	+	—	+(Gas)	+(Gas)	+(Gas)	+(Gas)	+(Gas)	—	Bac.polymyxa
5	—	—	—	+	+	—	+	+	+	Bac.megaretium
7	+	+	—	+	+	— (+)	+	+	+	Bac.licheniformis
8	+	+	—	+	+	—	—	—	+	Bac.cereus

Zusammenfassung

Es wurden 9 Proben von verschiedenen Gewürzarten auf ihre Bakterienflora untersucht:

Nach 72 stündiger Bebrütung bei 22°C wurden auf den beimpften Agar-Platten Kolonien der aeroben Bazillen, grampositiven Mikrokokken, Schimmelpilzen sowie Staphylo- und Streptokokken festgestellt.

Die beiden Gewürzproben, schwarzer Pfeffer und roter Paprika zeigten starken Befall mit aeroben Bazillen, während bei den Gewürzproben "Kümmel" und "Zimt" nur zwei Staemme der aeroben Bazillen nachgewiesen werden konnten.

Aus den untersuchten 9 Gewürzproben wurden insgesamt 9 Staemme isoliert und zwar je zwei Staemme *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis*, *Bac. polymyxa* und je ein Stamm *Bac. pumilus*, *Bac. cereus*, *Bac. licheniformis*.

Es geht aus unseren Versuchen hervor, dass die aeroben Bazillen bei 22°C (Zimmertemperatur) am besten auskeimen. Um die Vermehrung und die proteolytische Wirkung der aeroben Sporenbildner zu vermeiden, müssen die Temperaturen bei der Herstellung und Aufbewahrung der Fleischfabrikate gesenkt werden.

Durch Sterilisieren der Gewürze, die als Zutaten in der Lebensmittelindustrie Verwendung finden, werden die Fehlfabrikate und Nahrungsmittelverluste vermieden.

Özet

Muhtelif baharat nev'ilerine ait 9 nümune bakteri florasını tesbit maksadıyla bakteriyolojik muayeneye tabi tutuldu.

Oda hararetinde (22°C) 72 saat bırakılan ekilmiş jeloz plaklarında aerob basillere, grampositiv mikrokok'lara, mantarlara, Staphylokok ve Streptokok'lara ait koloniler tespit edildi.

Karabiber ve kırmızıbiber'den alınan nünunelerde bol miktarda aerob basiller bulunduğu halde kimyon ve tarçın nünunelerinde aerob basillere ait ancak iki suş izole edilebildi. Bunda Kimyon ve tarçın'ın eterik yağlardan zengin oluşlarının bir rölü olabilir.

Muayene edilen 9 baharat nünunesinden cem'an 9 olmak üzere ikişer suç halinde *Bac. megaterium*, *Bac. subtilis*, *Bac. polymyxa* ve

birer suç halinde *Bac. pumilus*, *Bac. cereus*, *Bac. licheniformis* izole edildi.

Denemelerimiz aerob basillerin üremesi için ve uygun hararet derecesinin 22°C (oda sıcaklığı) olduğunu gösterdi.

Aerob sporeluların üremesini ve proteolitik tesirini önlemek için et mamüllerinin hazırlanması ve saklanması tatbik edilen hararetin düşürülmesi gerekir.

Gıda sanayiinde ilâve maddesi olarak kullanılan baharatın sterilizasyonu ile bozuk gıdaların, dolayısıyla gıda kayıplarının önüne geçilmiş olur.

L i t e r a t ü r

- 1 - **Berkmen, L.** (1940): *Türkiye'de ette, et müstahzaratında ve bilhassa pasturmada hastalık amillerinin mevcudiyetiyle, dayanma müddetleri üzerine araştırmalar.* Ziraat Vekâleti, Yüksek Ziraat Enstitüsü çalışmalarından.
- 2 - **Breed, R., E.G.D. Murray and N.R. Smith.** (1957): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 7. Edith., Baltimore.
- 3 - **Coretti, K.** (1955): *Der Keimgehalt der Gewürze.* Fleischwirtschaft 7, 143, 305-308.
- 4 - **Coretti, K.** (1955): *Gewürzentkeimung, eine hyenische Notwendigkeit zur Entkeimung von Gewürzen durch UV-Bestrahlung.* Fleischwirtschaft 7, 386-388.
- 5 - **Dold, H. und A. Knapp.** (1948): *Über die antibakterielle Wirkung von Gewürzen.* Zeitschrift Hygiene 128, 696-706.
- 6 - **Grau, R.** (1933) *Salz, Gewürz und andere Zutaten zu Wurst.* Fleischwirtschaft 5, 164.
- 7 - **Hadlock, R.** (1957): *Über die Resistenz nativer aerober Sporenbildner bei verschiedenen Temperaturen.* Diss. Hannover.
- 8 - **Hille, J.** (1937): *Der Keimgehalt der Gewürze Majoran, weißer Pfeffer, Nelken und seine Bedeutung in der Wurstfabrikation.* Diss. Berlin.
- 9 - **Horowitz-Wlassowa, L.** (1908): *Zur Biochemie der Bakterien.* Zbl. Bakt. Abt. I Ref. 44, 9-11.
- 10 - **Hüttmann, H.** (1954): *Untersuchungen über den Keimgehalt der in Deutschland üblichen Gewürze und seine Beziehungen zur Entkeimung von Fehlfabrikaten.* Diss. Hannover.

- 11 **Jahson, W.** (1951): *Der Abbau von Eiweiss durch Reinkulturen proteolytischer Bakterien und seine im Reagenzglas nachgewiesenen Zwischen- und Endprodukte.* Diss. Giessen.
- 12 - **Lerche, M.** (1955): *Keimfreie Gewürze.* Fleischwirtschaft 5, 27.
- 13 - **Ostertag R., F. Schönberg.** (1955): *Lehrbuch der Schlachttier- und Fleischuntersuchung.* 2. Aufl., F. Enke Verl., Stuttgart, 740.
- 14 - **Schönberg, F., G. Wundram.** (1953): *Tieraerztliche Lebensmittelüberwachung.* 6. Aufl. Paul Parey Verlag, Berlin u. Hamburg.
- 15 - **Schönberg, F.** (1953): *Die Bedeutung schwer abtötbarer Mikroorganismen, insbesondere aerober Sporenbildner und ihrer Zerstörung durch UV-Lampen und hochwirksame neuzeitliche Desinfektionsmittel.* Lebensmittelärztl., 4, 78-79.
- 16 - **Derselbe:** (1955): *Die Bedeutung keimfreier bzw. keimarmer Naturgewürze für die Erzielung einwandfreier Rohwurst.* Fleischwirtschaft 7, 143-144.
- 17 - **Derselbe.** (1952): *Über die Bedeutung bakterieller Gewürze für das Verderben von Wurstwaren und Fleischkonserven zur Keimverminderung in Gewürzen durch UV-Entkeimungslampen.* Fleischwirtschaft 4, 132-133.
- 18 - **Smith, N.R. und Mitarbeiter.** (1952): *Aerobic Sporoforming Bacteria.* Agricult. Monogr. 16, Unit. States Dep. of Agricult.
- 19 - **Walz, E.** (1956) : *Ein eindrucksvolles Beispiel von Verkeimung (Bazillen- und Schimmelpilzbehaftung) in der Fleischwirtschaft verwendeter Gewürze.* Arch. f. Lebensmittelhyg. 7, 138-143.

Eingegangen am 24. März 1965.